

冠突伪尾柱虫(*Pseudourostyla cristata*)

接合生殖的研究*

I. 核器演化

张作人 庄豪 金立培

(华东师范大学 上海) (中山大学 广州)

摘 要

在25℃条件下,冠突伪尾柱虫接合生殖全程历时10天左右。接合生殖过程中的核器演化包括:①数十枚老的大核逐步瓦解。电镜观察表明,老的大核是以一种类似于食物泡消化的方式被吸收的,并在此过程中伴有大量溶酶体出现。②仅8枚左右小核中的一枚参与新核器的发生。首先,位于胞口后部的一枚小核膨大并进行一次预备分裂,接着发生三次成熟分裂。每一接合体内形成一枚雄原核和一枚雌原核。雌原核互向对方迁移并与其雄原核融合成为合子核。合子核分裂两次,四枚子核之一发育为大核原基,另一枚发育为小核原基,其余两枚退化。预备分裂和前两次成熟分裂各自产生的两枚子核中,仅一枚进入下一次分裂,另一枚解体消失。在第一次成熟分裂前期,“降落伞”的形成和发展经历着复杂的结构变化,持续一小时以上。③大核原基经过长时间的发育,伴有多线染色体的形成和解体等一系列变化,方达成熟状态。成熟的大核原基以伸长断裂、分叉断裂和哑铃形增殖三种方式进行分裂,小核原基亦随之分裂,逐步形成具60枚左右大核、8枚左右小核的正常营养体。其后,大核融合,开始配后第一次无性分裂。值得注意的是,大核原基发育到将成熟时,最初的迹象是染色质向大核原基中央集结成团,染色质团与核膜之间充满着匀质的核液。当中央染色质团伸长时,又将一相当大的核物质块排出核外。这种现象均未见发现于其它腹毛类纤毛虫大核原基发育过程中。

关键词 冠突伪尾柱虫 接合 交配型 核器演化 成熟分裂 大核原基

纤毛虫在原生动物进化阶梯上处于较高水平,各种细胞器获得了充分分化和发育。它们的核器二型化,具大核和小核。不同物种的皮膜都有特定的纤毛模式,各种性状易于识别。它们既是一个细胞,又是一个完整的生活整体。因此,纤毛虫已被广泛地用作研究发生、遗传及核质关系等基础理论的实验材料。

纤毛虫行无性分裂和有性接合两种生殖方式,两者均有新老胞器更替的现象发生。其中接合生殖尤为突出,更适合于核器发生和皮膜形态发生方面的研究。有关腹毛类纤毛虫接合生殖过程中的核器演化,某些科、属的代表已被较详细地研究过,如棘尾虫

本文1983年10月4日收到,1984年7月10日收到修改稿。

* 本实验的电镜观察得到中山大学电镜室大力协助,特此致谢。

(史新柏, 1975; Alonso, 1965; Kloetzel, 1970), 伪尖毛虫 (Gregory, 1923; Kay, 1946), 拟尾柱虫 (Jerka-Dziadosz, 1975; Moldenhauer, 1965), 伪尾柱虫 (Takahashi, 1974) 和游仆虫 (Rao, 1964), 等等。它们核器演化的程序基本相同, 都要经历成熟分裂、受精、合子核分裂及大核原基 (macronuclear anlage) 和小核原基 (micronuclear anlage) 形成的过程。但因物种不同, 其细节稍有变化。有的在成熟分裂之前先要进行一次预备分裂 (preliminary division), 如游仆虫、伪尾柱虫等。在其多枚小核的情况下, 有的仅一枚小核参与核器发生, 如伪尾柱虫; 有的则多枚小核参与分裂, 如拟尾柱虫、棘尾虫等。

寇突伪尾柱虫的无性分裂过程已有研究 (张作人等, 1982; Jerka-Dziadosz, 1964), 其接合生殖则未见报道过。本研究的目的在于对该种接合生殖过程中的核器演化、皮膜形态发生及其相互关系作一全面的考察, 并与该种无性分裂及其它腹毛类纤毛虫有性过程中所发生的某些事件进行比较, 为深入研究纤毛虫发生学提供参考。全文分两部分进行报告。这一部分先描述核器演化, 第二部分将报告皮膜形态发生。

材 料 和 方 法

材料来源 所用实验材料系1981年8月中旬采集于华东师大校园河内水浮莲密生处。鉴定所得材料为 *Urostyla cristata*。因Borror(1979)对腹毛目分类系统重新作了修订, 将 *U. cristata* 划归为 *Pseudourostyla* 属, 定名为 *P. cristata*。我们认为Borror的命名法比较合理, 故采用 *P. cristata* 这一名称。

培养及交配型测定 从采集的水样中用自制的微吸管吸取虫, 移至装有池塘过滤水或中性无机液的小培养皿中 (直径6公分), 每皿一虫, 并加1/8粒小麦和少许草履唇滴虫 (*Chilomonas paramecium*) 作饲料, 共建立原种克隆33个。为扩大克隆群体, 亦采用塑料瓶培养, 培养液和饲料同上, 效果更好。培养温度分温箱和室温两种。恒温培养控制在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 的范围内。每次用过的吸管均用高温杀死遗留于管壁内的虫子, 以防混杂。更换新鲜培养液后3—4天, 从各个克隆内分出部分虫子, 按所有可能的组合分别两两混合, 进行交配反应测定, 并共得到四个交配型 (mating types), 暂定名为交配型 I、II、III、IV。

核器变化的观察 将任何两个相应的交配型虫子混合于小培养皿内。自接合对形成开始, 用微吸管吸出接合对, 每隔半小时用饱和升汞水溶液固定一定数量的虫子, 分别以孚尔根反应 (Feulgen reaction)、海登汉氏 (Heidenhain) 苏木精法和蛋白银技术 (protargol technique) 制片。蛋白银染色法, 除用1.5%热琼脂涂片代替2:1的蛋白甘油, 高锰酸钾溶液浓度由0.1%改为0.5%外, 其它与Dragesco(1962)相同。电镜观察采用戊二醛、锇酸双固定法, 每隔4小时固定一批标本, 设正常营养体作对照。包埋剂为PDAP (苯二甲酸二丙烯酯8—10ml作包埋剂, 加增塑剂苯二甲酸二丁酯2ml和催化剂过氧化苯甲酰0.5克), 用醋酸铀和柠檬酸铅染色。切片厚度为500 Å, 观察及拍照在HITACHI HU-12A机上进行。

为帮助确定核器的变化时期, 亦辅之以醋酸洋红染色法临时制片观察。

本研究的全部实验制片保存于中山大学生物学系。

结 果

冠突伪尾柱虫体长约200—300 μ ，宽约50—80 μ 。常具大核60枚左右，小核8枚左右（图版 I，图 1）。在培养过程中，当虫口密度过大、培养液老化或温度较低的情况下易形成包裹。更换新鲜培养液后，包裹易解脱。

冠突伪尾柱虫的接合生殖严格限于相应交配型之间进行，同一交配型内从未发现接合现象。在25°C条件下，自接合双方以腹面相对、首尾一致自由游动时起，接合对保持23—24小时。在此期间，亲体双方各自一枚小核膨大并进行一次预备分裂，三次成熟分裂，配子核融合和两次合子核分裂。第二次合子核分裂产生的四枚子核之一发育为大核原基，另一枚发育为小核原基，剩下两枚解体消失。其后，每一接合对分离为两个接合后体。接合后体自由游动24小时左右，然后逐步失去各种纤毛小器，缩为圆球形或椭圆形，数日不动。鉴于其外无胶膜包裹，内部结构与休眠包裹不同，故称作“拟包裹”（paracyst）。在接合后体和拟包裹阶段，大核原基继续发育至成熟并开始分裂，小核原基亦随之进行第一次有丝分裂。

接合开始时，接合对双方及各接合对之间，其大、小核的数目是不相等的。根据15对接合体的计数，参与接合的各个体，大核数变化于27—97枚之间，小核数变化于3—9枚之间。这表明，接合对双方并不一定处于相同的发育阶段。在接合生殖过程中，亲体的大核逐步解体。数枚小核中，通常仅一枚参与核器发生，其余的亦瓦解。

（一）新核器的发生

1. 预备分裂

冠突伪尾柱虫接合对形成后，即启动新的核器发生，首先须经历一次预备分裂。这次分裂历时最长，若从接合开始算起，共需9—10小时。

在接合对形成后1小时左右，两个接合体各自口沟稍后的胞质区分别出现一枚稍微膨大的小核（图版 I，图 2）。其孚尔根反应比未膨大的小核弱，呈淡红色。随着这种小核的进一步膨大。其孚尔根着色反应不断递减。接合8小时左右，膨大小核达最大体积，同时形成纺锤体，开始进入中期（图版 I，图 3）。继而纺锤体伸长，转入后期和末期（图版 I，图 4）。这一过程进行得很快，从中期到两子核形成，约用1小时。

在某些接合对中，常可见到接合双方预备分裂不同步的现象，如一接合体内已形成两枚子核，另一接合体则尚处于分裂中期。这次分裂，一般仅由数枚小核中的一枚进行，但偶尔也观察到两枚小核同时膨大的现象。

2. 第一次成熟分裂

预备分裂完成之后，其中一枚子核退化，另一枚渐渐膨大并进入第一次成熟分裂前期。这大约发生于接合10—11小时之间。

第一次成熟分裂持续5—6小时,前期约占整个分裂期的3/5,是核内结构演化最复杂的一次分裂。首先,在接合双方口沟的后部(和预备分裂膨大小核的位置差不多),各有一枚孚尔根反应较弱的圆形核,体积不断增大。大约在接合13小时前后,此核达最大体积,一些分散的染色质粒在核内呈极性排列(图版I,图5),并开始朝两极移动。结果,核的一极形成一块小而密实的染色质团,另一极的染色质则变成大而疏松的半球形。二者看上去好似降落伞的伞体和下垂的重物,其间有丝状物相联系(图版I,图6)。这就是所谓“降落伞”期(parachute stage)的初期。随着伞体部的染色质向极端迁移并往核膜的内表面集结,伞体由半球形变成新月形,由密实染色质团发出的辐射丝状物更加明显。它不仅与伞体相联,而且与整个核膜相联(图版I,图7、8)。这是“降落伞”盛期。随后,伞体部的染色质开始脱离核膜,向核中央移动(图版I,图9、10)。在移动过程中,可见伞体部染色质丝不断缩短变粗;而另一极的密实染色质团亦向中央位移,但看不出有染色质丝缩短变粗的现象(图版I,图11)。当伞体移至核中部时,缩短变粗的染色质丝已转变为短棒状和颗粒状染色体,并排列在中期板上(图版I,图12)。此时,核内纺锤体已经形成,进入分裂的中期和后期(图版I,图13)。由于染色体甚小,数多且集中,难于计数。

这次分裂通常是在接合双方各自细胞内进行的,但也有例外,如一个接合体内有两个“降落伞”,而另一个接合体则无任何核分裂迹象。第一次成熟分裂的图象比其它分裂都长,后期纺锤体超过虫体长度的一半,两个接合体的分裂相有时也不同步。

3. 第二次成熟分裂

第一次成熟分裂所产生的两枚子核中,一般前子核于原地不动,逐渐退化;而后子核则迁移至口沟后部的胞质区,并迅速膨大呈椭圆形(图版I,图14)。这是第二次成熟分裂的前期,纺锤丝已经出现。接合对形成后15小时左右,可见染色质向中期板集中,第二次成熟分裂进入中期和后期(图版I,图15),进而完成这次分裂。

这次分裂大约经历2小时。与第一次成熟分裂一样,这次分裂的两个产物中也是前子核退化,后子核膨大并向前迁移至口沟后胞质区,从图版I图16中可以清楚地看到这一点。

4. 第三次成熟分裂和配子核融合

第三次成熟分裂历时1.5—2小时,其过程与第二次成熟分裂相似。首先,迁移至口沟后胞质区的后子核膨大成椭圆形并形成纺锤体(图版I,图17),接着染色质集中于中期板上,转入中期和后期(图版I,图18、19),最后形成前后两枚子核。

第三次成熟分裂所产生的两枚子核逐步膨大,孚尔根着色反应微弱。前一枚子核发育为雄原核(male pronucleus),后子核发育为雌原核(female pronucleus)。雄原核各自靠近腹部内表面对方迁移,并在两虫融合处近口沟的地方相遇(图版I,图20),但两枚迁移核不在同一焦距内,看来各有自己的迁移通道。雄原核先与对方的雌原核接近,然后融合成一枚合子核(图版I,图21)。这大约发生在接合对形成后19—20小时之间。

5. 合子核分裂

合子核形成后, 大约在 3 小时内连续分裂两次。每次约需 1.5 小时。

合子核位于虫体中前部。当它膨大呈椭圆形并形成纺锤体时, 就进入了第一次合子核分裂的前期 (图版 I, 图 22)。随后, 染色质向中期板集中, 接着纺锤体伸长, 进入中期和后期 (图版 II, 图 23、24), 进而完成第一次合子核分裂。从图 24 可以看出, 这次分裂的后末期, 两子核尚有纺锤丝相联, 但各自已转变成椭圆形。一旦拉开, 每个接合体的两枚子核就处于第二次合子核分裂的前期了。这两次分裂紧密衔接, 中间看不出有任何间歇。

第二次合子核分裂的过程与第一次基本相同, 只是第一次分裂产生的两枚子核不经膨大而直接进入第二次分裂前期, 故第二次分裂的前期核比第一次约小一半 (比较图版 II, 图 22 和图版 III, 图 24)。另一点不同的是, 这次分裂在每一个接合体内同时出现两个分裂相 (图版 III, 图 25), 共形成四枚子核。

这次合子核分裂, 接合对双方以及同一接合体内两个分裂相之间, 常有不同步的现象发生。所形成的四枚子核中, 一枚发育为大核原基 (图版 III, 图 26、27), 一枚成为小核原基, 其余两枚退化消失。在接合 23—24 小时后, 接合对分离成两个接合后体。

6. 大核原基的发育

在新核器发生的过程中, 大核原基的发育持续时间最长, 从其形成, 经接合后体、拟包囊到新个体诞生, 历时近 6 天之久。其间要发生一系列的结构变化才达到成熟状态。

从图 26 可以看出, 接合对未分离时的大核原基还很小, 孚尔根着色反应为淡红色, 比周围的老大核色浅。在持续约 24 小时的接合后体内, 匀质的大核原基内开始出现一些染色质丝, 并不断长大。后来, 染色质逐渐向大核原基膜的内周缘集结, 并一直持续到拟包囊阶段。拟包囊形成后, 大核原基继续长大, 其内的染色质丝更加明显并交织呈网状 (图版 III, 图 28)。当大核原基增长到最大体积时, 染色质丝逐步变粗, 标志着染色体的多线化已经开始 (图版 III, 图 29)。在此期间, 于大核原基膜的内周缘仍可见到大块的染色质聚集。当大核原基发育 70—80 小时时, 多线化达高峰期 (图版 III, 图 30、31)。多线染色体具不同宽窄的带纹 (bands), 但未发现有疏松区 (puffs) 的迹象。其孚尔根着色反应很强, 表明 DNA 含量亦处于高峰。此后, 多线染色体逐步解体, 核内留下一些染色质颗粒。电镜观察表明, 这一过程是以膜状物质分隔各个带区开始的。当大核原基发育到 110 小时前后, 染色质颗粒消失, 几乎呈孚尔根阴性反应, 进入了 DNA 贫乏期。

DNA 贫乏期大约持续 10 小时。然后, 大核原基的中央再次出现染色质并集结成团, 中央染色质团和核膜之间充满着匀质的核液 (图版 III, 图 32)。接着, 中央染色质团逐渐伸长呈棒状, 其两端与核膜接近 (图版 III, 图 33、34)。值得注意的是, 在中央染色质团伸长的过程中, 用蛋白银染色, 发现有一相当大的、内含空泡的物质块从大核原基内排出, 其体积相当于中央染色质团的一半 (图版 III, 图 34)。图版 IV 图 35、36 示这块

核内物质从大核原基排出的过程。直到成熟大核原基分裂成10多枚大核时,这块核内排出物才逐渐从细胞质内消失。

随着大核原基不断伸长,拟包囊亦慢慢变长,并有前、后、腹、背之分,开始缓慢运动。当大核原基伸长呈带状时,小核原基进入配后第一次有丝分裂的前期或中期,随后大核原基开始分裂。我们发现大核原基的分裂方式有三种:①伸长呈带状的大核原基同时断裂成数节(图版Ⅳ,图37);②大核原基伸长、分叉(图版Ⅳ,图38),然后断裂成数节;③稍伸长的大核原基中间一处或两处发生收缩,继而一分为二或一分为三(图版Ⅳ,图39)。随着大、小核的分裂,虫体进一步变长并自由取食。2—3天后,虫体达正常营养体大小,具大核数十枚,小核数枚(图版Ⅳ,图40)。接着,数十枚大核融合,开始配后第一次无性分裂(图版Ⅳ,图41),从而结束了有性世代周期。

值得附带提及的是,我们还经常发现大核原基发育的一些畸形现象,如含三枚、两枚或没有大核原基的接合后体及拟包囊等(在解剖镜下活体观察,一枚大核原基就是一个亮点,容易与周围透光性较差的细胞质区别开)。其中以两枚大核原基的拟包囊较常见(图版Ⅰ,图28)。具两枚大核原基的拟包囊在大小上可分为两种,大者几乎为小者的两倍。经活体连续观察,大者是因接合不分离形成的双大核原基畸形;小者推测是核器分裂失调,如一个接合体内有两个分裂相而最终形成两枚大核原基或第二次合子核分裂的四个产物中同时有两枚子核发育为大核原基等,都会形成双大核原基的拟包囊畸形。将二者分开培养,大者总是演化为各种畸形双体动物,小者则只发育为单体虫。

(二) 亲体大核的解体

在冠突伪尾柱虫的接合生殖过程中,随着新核器的发生,亲体的大核逐渐解体。接合3小时左右,大核内出现空泡。这是解体的最初迹象。至8小时前后,整个大核空泡化,染色质多凝聚于中央(图版Ⅳ,图42)。电镜观察表明,此时老大核呈各种不规则的形状,电子密度较大的染色质块位于中央,核内结构不清。作为对照,营养体的正常大核的内部结构却很有规律(图版Ⅳ,图45)。接合12小时前后,核内空泡逐步消失,中央染色质向核膜内周缘转移(图版Ⅳ,图43、46)。此时正处于第一次成熟分裂前期的“降落伞”阶段。至第二次合子核分裂中、后期,老大核缩为圆形,固缩的染色质块被分解成不同大小的颗粒(图版Ⅳ,图44)。在电镜下观察,这些颗粒就是各种形状的染色质块。此过程还伴有大量溶酶体产生(图版Ⅳ,图47)。随后,核内含物不断减少,核内出现大片“空地”(图版Ⅳ,图48)。随着核内空白区的扩大,内含物最终消失殆尽,核膜才随之消失。这一过程与食物泡的消化吸收作用极为相似,唯一的区别是解体大核的双层核膜代替了食物泡的单层膜。解体的大核一般在拟包囊后期完全消失,但有时在达到正常营养体大小的新生个体内,仍可观察到大量的残核(图版Ⅳ,图40)。

讨 论 和 小 结

(一) 冠突伪尾柱虫接合生殖过程中的核器发生和高桥忠夫(Takahashi 1974)在同属异种*Pseudourostyla levis*上所描述的过程基本相似,但也有某些不同之处和新的

发现。除在发育时间上略有出入外,其主要差别是:①对于*P. levis*第一次成熟分裂前期所出现的“降落伞”阶段,高桥认为时间很短,仅20分钟左右;而在*P. cristata*,其“降落伞”的形成和发展就同棘尾虫(史新柏,1975;Alonso,1965)及游仆虫(Rao,1964)中所见一样,要经历一系列复杂的变化,持续1小时以上。②成熟大核原基的分裂,除在*P. levis*上所见的先伸长呈带状,然后断裂成数节外,我们在*P. cristata*还观察到分叉而后断裂及呈哑铃形或三节串珠形两种分裂方式。后一种分裂方式(哑铃形)与无性分裂时融合大核的分裂类似。唯一的区别是,位于融合大核近旁并随之进入分裂期的小核不是一枚,而是4—6枚(Jerka-Dziadosz,1964)。③在*P. levis*,第二次合子核分裂所产生的四枚子核中,一枚发育为大核原基,一枚退化,两枚成为小核原基;而*P. cristata*的情况是,一枚发育为大核原基,两枚退化,仅一枚成为小核原基。

(二)通过对冠突伪尾柱虫大核原基发育的观察,我们发现同样存在一个大致类似于棘尾虫和游仆虫的复杂演化过程(Ammermann,1971;Kloetzel,1970),而且看到了一些特殊的现象。①孚尔根反应制片观察表明,冠突伪尾柱虫大核原基的发育过程中出现两次DNA合成高峰,中间隔着一个DNA贫乏期。这与Ammermann(1971)在棘尾虫上的实验结果相似。所不同的是,在第二次DNA合成高峰期不是先合成完后再行大核分裂,而是边合成边分裂。这大概与冠突伪尾柱虫具有数十枚大核有关。②大核原基内多线染色体的形成和解体过程与棘尾虫、游仆虫上所见类同(Ammermann,1971)。电镜观察结果表明,其解体方式亦与棘尾虫、游仆虫相象(Kloetzel,1970)。至此,在腹毛目纤毛虫中,至少有三个科的某些被研究过的代表,有着基本相同的大核原基发育过程。无可置疑,这是它们系统发育上有着同源性的反映。此外,多线染色体虽然具有不同宽窄的带纹,但未发现存在疏松区的迹象。这为未能在游仆虫大核原基内测出任何明显的转录现象,因而认为多线染色体的出现并不负有特别的转录功能之见解(Rao,1970),提供了又一个细胞形态学方面的证据。③在冠突伪尾柱虫大核原基发育后期,即第二次DNA合成高峰始期,染色质在大核原基中央聚集成团。当中央染色质团伸长时,又将一相当大的物质团块排出核外。虽然Ammermann(1969)曾报道过棘尾虫大核原基内多线染色体解体时将DNA碎片释放到培养液中的现象,但象这么大的团块直接排出核外却从未发现过。这块核物质团的性质、被排出的意义都是不清楚的,有待于进一步研究。

(三)从预备分裂前期的小核膨大至以后各次分裂的前期和中期,除合子核分裂外,分裂核的位置几乎不变地限于口沟稍后一个不大的胞质区内。尽管有些分裂的后末期图象拉得很长,但进入下一次分裂的子核总要作相应的位置调整,迁移到这一特定的胞质区中。Nanney(1953)和Sonneborn(1954)曾分别对大、小核分化之前的四膜虫和草履虫进行离心,结果更改了预定发育为大核或小核的核原基之命运。这为特定的胞质区控制核原基的发育方向提供了实验依据。我们没有进行类似的工作,但从上述现象看来,是否可以认为,冠突伪尾柱虫特定的胞质区对于核器的分化、分裂和发育同样起着某种重要的作用呢?

(四)亲体大核的解体方式在棘尾虫、游仆虫和拟尾柱虫中,所见相同,先裂解成数块而后逐渐消失(史新柏,1975;Alonso,1965;Rao,1964;Jerka-Dziadosz,1975)。

在冠突伪尾柱虫,我们看到了大核解体的另一种方式。它们不裂解,核膜一直保持完整,以一种类似于食物泡的方式被消化吸收。在此过程中,还伴有大量溶酶体出现。这表明,至少有一部分溶酶体参与了大核的解体。

参 考 文 献

- 史新柏 1975 算尾虫接合生殖的研究 I. 接合生殖中的核行动。动物学报21(4): 326—335
- 张作人等 1982 尾柱虫的形态发生研究。动物学研究3(1): 1—9
- Alonso P. and Pavez-Silva J. 1965 Conjugation in *Stylonychia muscorum* Kahl. *J. Protozool.* 12: 233—238
- Ammermann D. 1969 Release of DNA breakdown products into the culture medium of *Stylonychia mytilus* exconjugants (Protozoa, Ciliata) during destruction of the polytene chromosomes. *J. cell Biol.* 40: 676—677
- Ammermann D. 1971 Morphology and development of the macronuclei of the ciliates *Stylonychia mytilus* and *Euplotes aediculatus*. *Chromosoma* (Berl.) 33: 209—238
- Borror A. C. 1979 Redefinition of the *Urostylidae* (Ciliophora, Hypotrichida) on the basis of morphogenetic characters. *J. Protozool.* 26(4): 544—550
- Dragesco J. 1962 *Bull. Microscop. Appliquee.* 11(2): 49—58
- Gregory L. H. 1923 The conjugation of *Oxytricha fallax*. *J. Morph.* 37: 555—581
- Jerka-Dziadosz M. 1964 *Urostyla cristata* sp. n. (Urostylidae, Hypotrichida) the morphology and morphogenesis. *Acta Protozool.* 2: 123—128
- Jerka-Dziadosz M. and Janus I. 1975 Discontinuity of cortical pattern during total conjugation of a Hypotrich ciliate *Paraurostyla weissei*. *Acta Protozool.* 13: 309—333
- Kay M. W. 1946 Studies on *Oxytricha bifaria*. III, Conjugation. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 65: 132—148
- Kloetzel J. A. 1970 Compartmentalization of the developing macronucleus following conjugation in *Stylonychia* and *Euplotes*. *J. cell Biol.* 47: 395—407
- Moldenhauer D. 1985 Zytologische untersuchungen zur konjugation von *Stylonychia mytilus* and *Urostyla polymicronucleata*. *Arch. Protistenk.* 108: 63—90
- Nanney D. L. 1953 Nucleocytoplasmic interaction during conjugation in *Tetrahymena*. *Bull. Biol.* 105: 133—148
- Rao M. V. N. 1964 Nuclear behavior of *Euplotes woodruffi* during conjugation. *J. Protozool.* 11(3): 286—304
- Rao M. V. N. and Ammermann D. 1970 Polytene chromosomes and nucleic acid metabolism during macronuclear development in *Euplotes*. *Chromosoma* (Berl.) 29: 240—254
- Sonneborn T. M. 1954 Patterns of nucleocytoplasmic integration in *Paramecium*. *Caryologia* (suppl) 6: 307—325
- Takahashi T 1974 Nuclear behavior in total and temporary conjugation of *Pseudourostyla levis*. *J. Sci. Hiroshima Univ.* 25: 157—171

STUDIES ON CONJUGATION IN *PSEUDOUROSTYLA CRISTATA* I. NUCLEOGENESIS

Jin Lipai Zhuang Hao

(Department of Biology Zhongshan University Guangzhou)

Tchang Tsorun

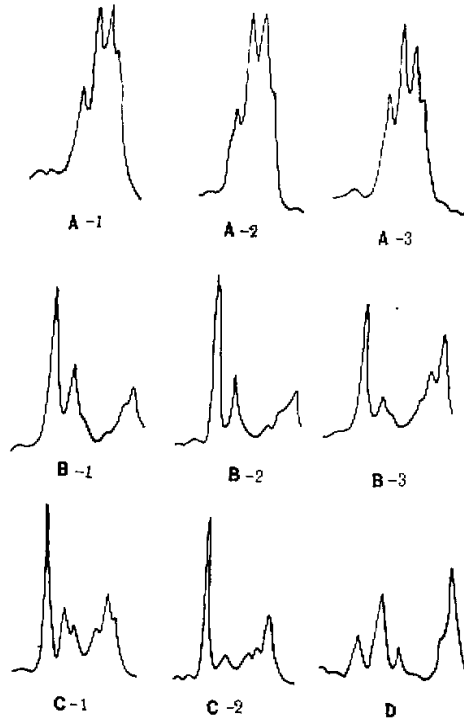
(Department of Biology East China Normal University Shanghai)

During conjugation of *Pseudourostyla cristata*, only one of about 8 micronuclei undergoes a preliminary division in each conjugant, then followed by three successive maturation divisions. The third division produces two pronuclei. Following the male pronuclei exchange and fertilization, synkaryon divides twice. One of the four products develops into a macronuclear anlage, another into a micronuclear anlage, and the remaining two degenerate. In the prophase of the first maturation division, it was found that the development of parachute stage undergoes very complex changes that lasting at least for one hour. The macronuclear anlage develops for about 5 days and undergoes a series of complex changes including formation and disintegration of polytene chromosomes. As the macronuclear anlagen [are on the point of maturing, the chromotin aggregates and forms a piece of chromotin in the centre of anlagen. The place between the piece and the nuclear membrane is full of homogeneous nuclear fluid. When the chromotin piece lengthens in anlagen, we have found that a large lump of nuclear material (about $\frac{1}{2}$ of the centre chromotin piece) was removed from the anlagen, and its nature has not been known. Subsequently, the mature anlagen start to divide in three ways.

During the development of new nuclei, the old macronuclei gradually disintegrate in such a way as in digestion and absorption of food vacuoles, and a lot of lysosomes are produced in the meantime.

Key words *Pseudourostyla cristata* Conjugation Mating types Nucleogenesis Maturation divisions Macronuclear anlage

(上接 154 页)



图二、鱼眼晶状体酯酶同工酶电泳扫描图

Fig. 2. Electrophoretic tracing of the esterase isoenzyme from the crystals of the fish eyes

(二) 同种鱼的晶状体电泳图谱基本相同, 反映出种的相对稳定性。笔者分别对鲫鱼的成体、幼体; 罗非鱼 (不同体长) 的晶状体酶液进行电泳比较, 同种鱼的酶带基本相同。又用 8 尾罗非鱼的单体晶液与每 4 尾的等量混合液, 以及 6 尾红鳍鲃的单个晶液分别进行电泳比较, 发现同种鱼图谱亦基本一致。

(三) 同种雌、雄鱼晶状体酯酶带差异不明显, 可认为基本相似。

(四) 鱼晶状体酯酶同工酶带清晰、稳定, 再现性好, 可作为鱼种鉴定的一种生物化学方法。

A-1 尼罗罗非鱼 *Tilapia nilotica* Linnaeus, ♂ (混合晶液) (平均体长 255 厘米)。

A-2 尼罗罗非鱼 *Tilapia nilotica* Linnaeus, ♂ (单体晶液) (体长 257 厘米)。

A-3 尼罗罗非鱼 *Tilapia nilotica* Linnaeus, ♂ (平均体长 120.3 厘米)。

B-1 鲫鱼 *Carassius auratus auratus* (Linnaeus), ♂ (成体)。

B-2 鲫鱼 *Carassius auratus auratus* (Linnaeus), ♀ (成体)。

B-3 鲫鱼 *Carassius auratus auratus* (Linnaeus), (幼体)。

C-1 红鳍鲃 *Culter erythropterus* Basilewsky, ♀ (成体)。

C-2 红鳍鲃 *Culter erythropterus* Basilewsky, ♂ (成体)。

D 麦穗鱼 *Pseudorasbora parva* (Temminck et Schlegel) (幼体)。

E 梅花鱼 *Abbottina rivularis* (Basilewsky) (幼体)。

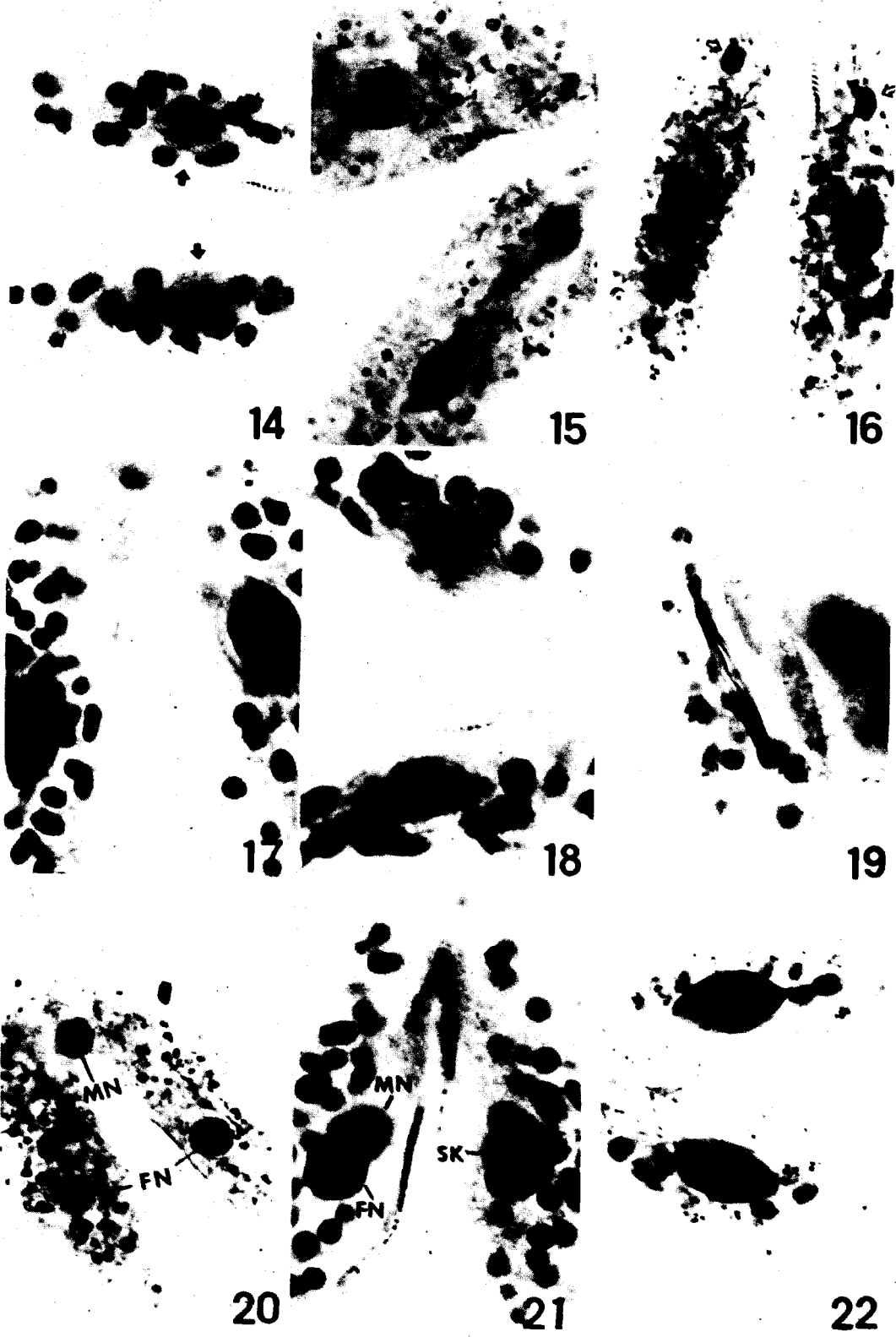
(尼罗罗非鱼采自陕西卢县、坝桥热电厂鱼池, 其余标本采自陕西渭南沈河)

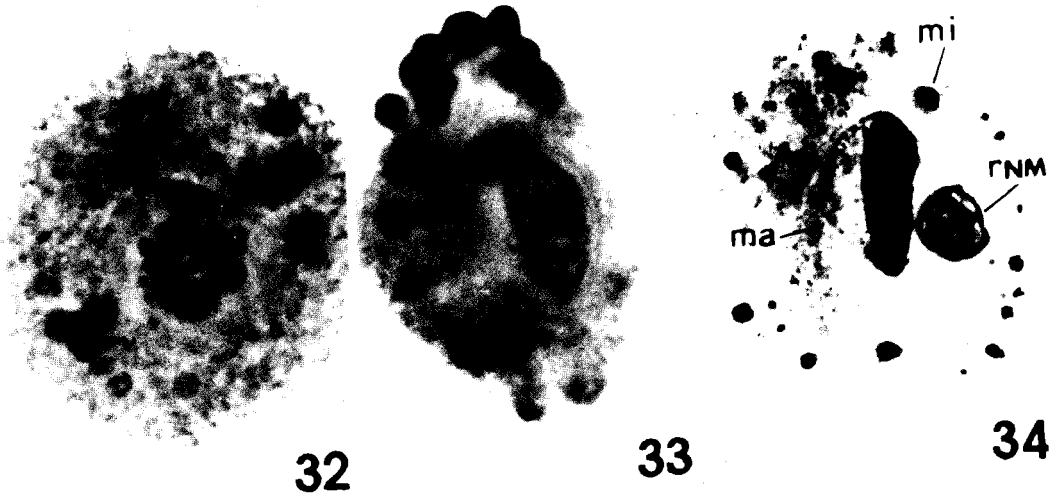
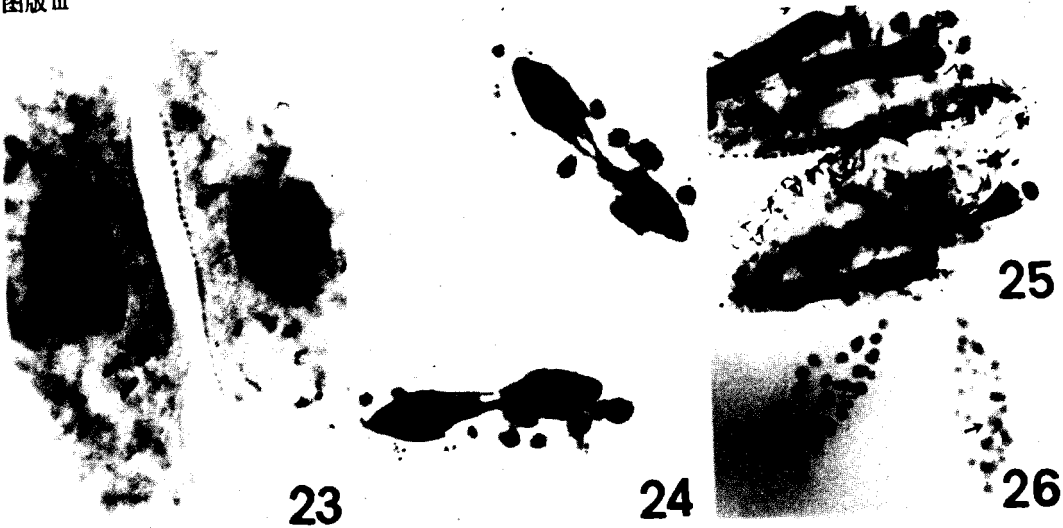
屈虹 党基叶 宋世良 方树森 郭亮霞 (陕西省动物研究所)

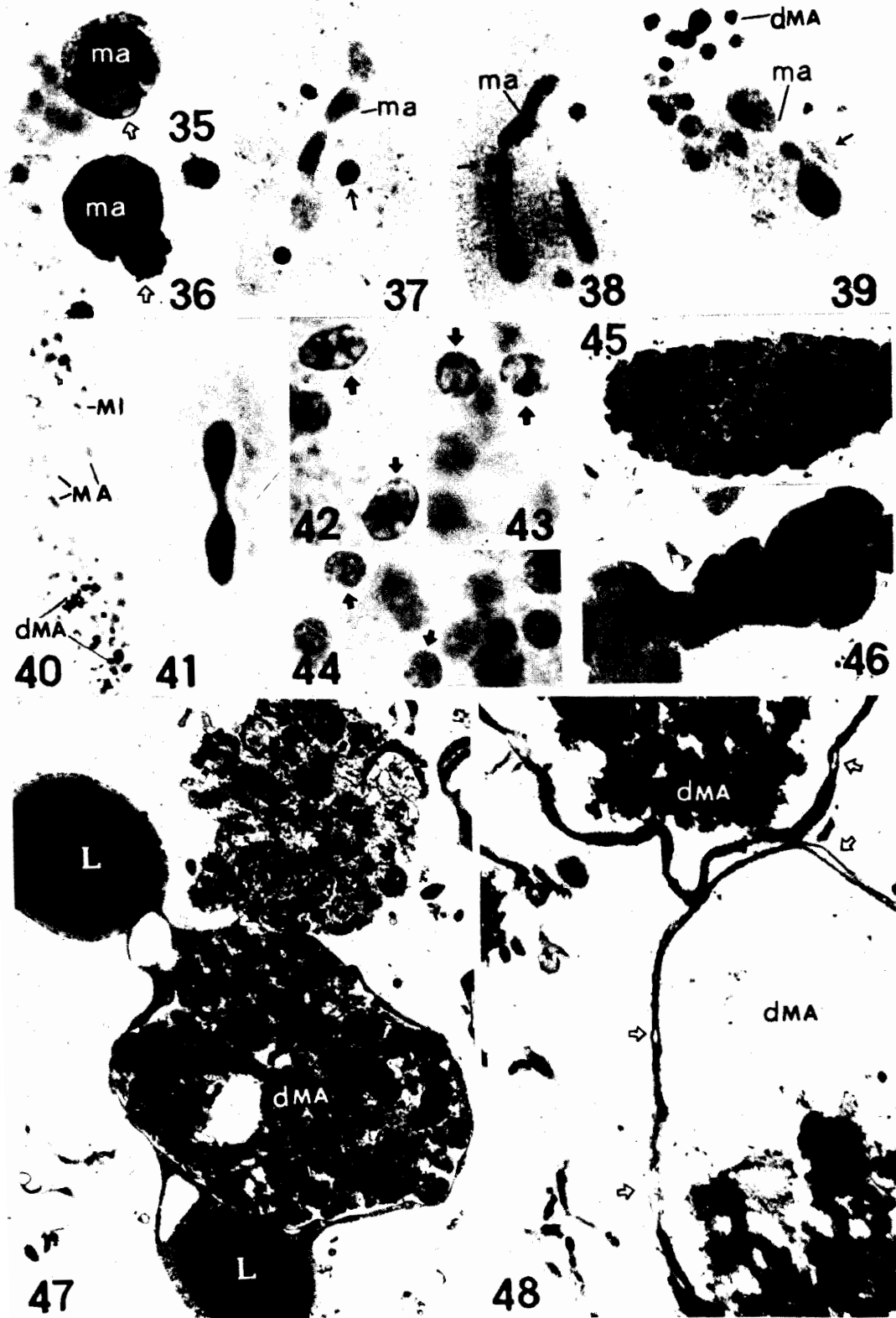
电泳扫描系第四军医大学王家政同志协助完成, 特此致谢。

本文 1984 年 5 月 12 日收到, 1984 年 8 月 27 日收到修改稿。









I Nucleogenesis

冠突伪尾柱虫接合生殖的研究 I 核器演化

图版说明

图版 I—IV

冠突伪尾柱虫接合生殖过程中的核器演化:

图1、41为铁苏木精染色制片,图26—29、37—40、42—44为孚尔根反应制片,图2—25、30—36为蛋白银染色制片照相。
图45—48为透射电镜照相。

图版 I

1. 营养体, 示大核(MA)和小核(MI)。×320
2. 接合对。箭头示开始膨大的小核。×480
3. 接合对, 示预备分裂中期。上核为极面观, 下核为侧面观。×800
4. 接合对, 示预备分裂后期(箭头)。×800
- 5—11 第一次成熟分裂前期, 示“降落伞”的形成和发展。图5示染色质在核内早极性排列(箭头), 右虫有两枚前期核。
图6示“伞体”和密实染色质团移向两极(箭头)。图7、8示“降落伞”盛期, 7为侧面观, 8为极面观。图9、10示“伞体”开始向核中央移动。图11示“伞体”染色质丝缩短变粗(黑箭头), 密实染色质团亦向中央移动, 但没有染色质丝变粗的现象(空箭头)。图5、7、8、9、10、11、×1,000 图6、×640
- 12 第一次成熟分裂中期, 示染色体(箭头)。×1,000
- 13 第一次成熟分裂中、后期。左虫为中期, 右虫为后末期。×640

图版 II

- 14 第二次成熟分裂前期(箭头)。×640
- 15 第二次成熟分裂中期(上核)、后期(下核)。×800
- 16 接合对。示第二次成熟分裂完成后前子核退化(箭头), 后子核开始膨大。×640
- 17 第三次成熟分裂前期, 示纺锤体形成。×800
- 18 第三次成熟分裂中期(下核)、后期(上核)。×800
- 19 第三次成熟分裂后末期。×800
- 20 接合对。示雌原核(FN)和雄原核(MN)。×640
- 21 接合对。示雌雄原核融合(左)和合子核(SK)。×800
- 22 第一次合子核分裂前期。×800

图版 III

- 23 第一次合子核分裂中期。×800
- 24 第一次合子核分裂后末期。×800
- 25 第二次合子核分裂后末期。×800
- 26 接合对。箭头示大核原基。×320
- 27 为图26左虫部分放大, 示大核原基(ma)。×1,000
- 28 拟包囊期。示两枚大核原基(ma)及网状染色质丝。×1,000
- 29 大核原基, 示染色体多线化初期。×1,000
- 30—31 多线染色体。图31为压片照相。×1,000
- 32 拟包囊。箭头示大核原基, 其中央形成染色质团。×800
- 33 拟包囊。箭头示大核原基, 中央染色质团开始伸长。×800
- 34 拟包囊。示大核原基(ma)、小核原基(mi)和大核原基内排出的核物质块(rNM)。×800

图版 IV

- 35—36 大核原基(ma)。箭头示核内物质块向核外排出的过程。图35、36、×800
- 37—39 新生虫体, 依次示带状、分叉和哑铃形大核原基(ma), 箭头示小核原基, dMA示退化大核。图37、38、39、×640
- 40 新生虫体。示大核(MA)、小核(MI)和退化的亲体大核(dMA)。×320
- 41 配后第一次无性分裂的虫体。示融合大核开始分裂。×400
- 42—44 亲体大核(箭头), 示解体过程。×1,000
- 45 电镜照相, 示营养体大核切面。×7,000
- 46 电镜照相, 示接合约12小时的大核切面。×10,000
- 47 电镜照相, 示接合约22小时的解体大核切面(dMA)和溶酶体(L)。×20,000
- 48 电镜照相, 示两枚晚期的解体大核切面(dMA), 箭头示双层核膜。×40,000